

Sobre o ciclo evolutivo de *Schizocystis spinigeri* n. sp.
Gregarina do intestino de uma especie de *Spiniger*.

por

Astrogildo Machado

(Com as estampas 1, 2 e 3)

Über den Entwicklungskreis einer Gregarine, *Schizocystis spinigeri*
aus *Spiniger* spec.

von

Astrogildo Machado

(Mit Taf. 1, 2 und 3)

I. Material e tecnica

Em LASSANCE, Estado de MINAS, tivemos ocasião de encontrar no intestino dum hemiptero da familia *Reduviidae* e do genero *Spiniger*, a esquizogregarina que constitue o assunto deste pequeno trabalho.

Os hemipteros hospedadores parecem ser muito raros e, durante um ano, só conseguimos colher dois exemplares, encontrados á noite pelas paredes do laboratorio, atraídos pela claridade da luz. Ambos apresentavam-se intensamente parasitados pela gregarina.

Com agulha fina destacámos o ultimo segmento abdominal ao qual ficava aderente um tubo fino, de pouco mais de 1 cm. de comprimento, que era o intestino. Dissociá-mol-o cuidadosamente, deixando-o sempre immerso em liquido da cavidade geral do inseto. Depois, cobrindo com laminula, examinavamos ao microscopio.

I. Material und Technik.

Während eines Aufenthaltes in LASSANCE (Minas Geraes) fanden wir im Darne eines Hemipterons aus dem Genus SPINIGER (Fam. *Reduviidae*) die Gregarinerart, welche den Gegenstand unserer kleinen Arbeit bildet. Diese Wanzenart scheint sehr selten; wenigstens erlangten wir im Laufe eines Jahres nur zwei Exemplare und zwar an den Wänden unseres Laboratoriums, wo sie Abends, offenbar durch das helle Licht angezogen, zur Beobachtung kamen. Beide zeigten sich mit unserer Gregarine hochgradig infiziert.

Bei der Untersuchung wurde das letzte Abdominalsegment mit dem anhängenden Darne entfernt; derselbe bildet einen feinen Schlauch von etwas über Zentimeterlänge. Er wurde sorgfältig in der Coelomflussigkeit des Wirtes zerzupft und nach Auflegen eines Deckgläschens, mikroskopisch untersucht.

Devemos notar, desde já, que não conseguimos ver o protozoário fixado ás paredes intestinais, assim como não observámos vestígio algum de aparelho de fixação, em qualquer de seus períodos de evolução. Vimos formas muito jovens já livres na cavidade intestinal.

O exame do liquido da cavidade geral não mostrou parasitos, fato este que exclue a hipótese de poder esta gregarina parasitar a cavidade celomica do inseto. Retirada a lamínula era então fixada, a humido, no sublimado alcool de SCHAUDINN, e depois corada pela hematoxilina ferrea de HEIDENHAIN. Na ocasião, foi nos impossível corar, depois do HEIDENHAIN, pelo ORANGE G., para observar as reações oranjeofilas dos gamontes, indicadas por LÉGER (1909).

Ate hoje decorridos quasi dois anos, não conseguimos obter mais nenhum hemiptero. A escassez deste material justificará, ás falhas que se notarem no decorrer deste artigo.

II. — Esquizogonia.

O esquizozoito, quando ainda reunido a outros no interior da forma segmentada (Est. 2. fig. 25, 26,) apresenta-se como pequeno organismo arredondado, provido de nucleo com cariosoma compacto que, impregnando-se fortemente pelo córante, nada deixa distinguir em seu interior.

Raramente se percebe, muito proximo dele, um pequeno granulo cromático.

A zona de suco nuclear é percorrida, ás vezes, por trabeculas de linina que se dirijem da face interna da membrana nuclear para o cariosoma.

O plasma é finamente alveolar, não se percebendo ainda diferenciação fibrilar do periplasto.

Conforme o esquizozoito evolve para a formação de esquizonte ou de gametócito, permanece o plasma ou indiferenciado ou accentuam-se as disposições fibrilares do periplasto (comparem-se na Est. 1, as figs. 1 a 3 que evolvem para gamontes e figs. 4 a 7 para esquizontes).

Na evolução esquizogonica as celulas oferecem o plasma mais grosseiramente alveolar, ás vezes vacuolizado (fig. 4 e 6, Est. 1).

Es muss gleich bemerkt werden, dass wir die Gregarinen weder an den Darmwänden fixiert beobachteten, noch überhaupt in irgend einer Entwicklungsphase auch nur eine Spur eines Fixationsapparates wahrnahmen. Wir sahen sehr junge Formen, welche sich bereits frei im Darmlumen vorfanden.

Die Untersuchung der Coelomflussigkeit ergab keine Parasiten, was die Vermutung ausschliesst, dass derselbe in der Leibeshöhle lebe.

Nach Entfernung des Deckgläschens fixierten wir feucht in Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN und färbten dann mit Eisenhaematoxylin nach HEIDENHAIN. Es war damals nicht möglich, eine Färbung mit Orange G nachfolgen zu lassen, um so die von LÉGER (1909) angegebenen Färbereaktionen der Gamonten zu beobachten.

Auch in den seitdem verflossenen zwei Jahren konnten wir von dieser Wanzenart kein weiteres Exemplar erhalten. Möge deshalb das spärliche Material die Lücken in unserer Arbeit wenigstens teilweise entschuldigen.

II. Schizogonie.

Solange sich die Schizozoiten noch nicht getrennt haben (Fig. 25 und 26, Taf. 2), erscheinen sie als kleine, rundliche Organismen mit einem Kerne, der ein kompaktes Karyosom aufweist; letzteres färbt sich so stark, dass man in seinem Innern nichts unterscheiden kann. Sehr nahe an demselben kann man hie und da ein kleines Chromatinkorn erkennen. Die Kernsaftzone ist manchmal von Lininbälkchen durchsetzt, die von der Innenseite der Kernmembran zum Karyosome ziehen. Das Plasma ist fein alveolär und zeigt noch keine Faserbildung im Periplaste.

Je nachdem sich der Schizozoit zum Schizonten oder Gametozysten entwickelt, bleibt das Plasma indifferentiert oder es akzentuiert sich eine Fibrillenbildung des Periplastes. (Vergl. Taf. 1, Fig. 1—3: Bildung der Gamonten und 4—7: Schizontenbildung). Bei letzterer zeigt das Zellplasma grössere Waben und manchmal sogar Vakuolen. (Taf. 1, Fig. 4—6). Die Form ist bei allen Phasen

Em qualquer dos estádios deste ciclo o protozoário apresenta, quasi constantemente, a forma arredondada, e constitue verdadeira raridade o aspeto alongado representado na fig. 4. E' pelas razões dadas acima, ausencia de fibrilas do periplasto e estrutura de grossos alveolos, que consideramos esta figura como sendo joven esquizonte.

O nucleo dos esquizontes oferece aspetos muito variados. Comumente se observa um granulo cromatico na zona do suco nuclear, quasi sempre muito proximo e ligado ao cariosoma por delgado filamento de cromatina (figs. 4, 6 e 8, Est. 1), muitas vezes ele se apresenta dividido, como vemos na fig. 5.

Acreditamos serem eles os centriolos saídos do cariosoma, e, por isto, a grande massa esferica de cromatina a que, ás vezes, se acham ligados, representa um nucleolo [segundo HARTMANN & PROWAZEK (1907)].

O papel de centriolos atribuidos a tais corpusculos justifica-se plenamente pela observação da fig. 9, Est. 1, onde notamos o desdobramento deles, achando-se um ao outro ligado por filamento cromatico, aspeto identico ao observado no inicio de muitas divisões mitoticas.

Nunca os vimos no apice de cone acromatico-centrocone, constituindo aspetos analogos áqueles tão bem estudados por SCHELLACK, (1907), LÉGER, (1909), LÉGER & DUBOSCQ, (1908-1909), e outros protozoologistas, em diversas gregarinas.

E' verdade que não conseguimos surpreender grande numero de celulas em divisões nucleares, mas as figuras 9 e 22 nos mostram que o processo de mitose se realiza sem o aparecimento do *centrocone*.

Tal processo, efetuado quando o centriolo é extra-cariosomico, deverá aproximar-se daquele que se passa na *Pelomyxa palustris* [segundo BOTT (1907)]. A diferença estaria apenas em que o nucleolo, na *Pelomyxa*, não se encontra, no inicio do fenomeno, no eixo do filamento cromatico, que liga os centriolos, ao contrario do que se observa nas figuras 9 e 22.

E' provavel tambem se realizar, ás vezes no esquizonte, quando não ha centriolo exteri-

dieses Zyklus fast stets abgerundet; die längliche Gestalt, wie sie Fig. 4 zeigt, bildet eine seltene Ausnahme. Nur wegen der eben angeführten Gründe: Fehlen der Fibrillen des Periplastes und grosswabige Struktur, sprechen wir dieses Bild als junge Schizontenform an.

Der Kern der Schizonten zeigt ein sehr wechselndes Aussehen. Gewöhnlich sieht man in der Kernsaftzone ein Chromatinkorn, fast immer dicht am Karyosom und mit demselben durch einen Chromatinfaden verbunden (Taf. I, Fig. 4, 6 und 8); sehr häufig ist es geteilt, wie in Fig. 5. Es sind dies, wie wir glauben, aus dem Karyosom ausgetretene Zentriole, während die grosse runde Chromatinmasse, mit der sie zuweilen in Verbindung stehen, nach HARTMANN und PROWAZEK (1907) einen Nukleolus darstellt. Die Zentriolennatur, welche wir diesen Körperchen zuschreiben, wird durch eine genauere Betrachtung von Fig. 9 bestätigt; hier erscheinen sie geteilt und durch einen Chromatinfaden verbunden, ein Bild, wie man es zu Anfang vieler mitotischer Teilungen beobachtet. Niemals fanden wir dies Körperchen an der Spitze des achromatischen Zentrokonus, wie bei den von SCHELLACK (1907), LÉGER (1909), LÉGER und DUBOSCQ. (1908 - 1909) und anderen Forschern bei verschiedenen Gregarinen so eingehend erörterten Bilder. Freilich ist es uns leider nicht gelungen, eine grössere Anzahl von Zellen im Moment der Kernteilung zu beobachten, doch zeigen uns die Figuren 9 und 22, dass der mitotische Prozess ohne Auftreten des Zentrokonus verläuft. Vollzieht sich dieser Prozess während das Zentriol sich ausserhalb des Karyosoms befindet, so erinnert er an die Vorgänge bei *Pelomyxa palustris* nach BOTT (1907), nur mit dem Unterschiede, dass der Nukleolus bei *Pelomyxa* im Anfange nicht in der Achse des die Zentriolen verbindenden Chromatinfadens gefunden wird, wie es Fig. 9 und 22 für unsere Gregarine zeigen.

Wahrscheinlich kommt es bisweilen beim Schizonten, wenn kein äusseres Zentriol existiert, zu einer wirklichen

or, uma promitose semelhante àquela descrita na *Adelea ovata* por JOLLOS, (1908) em que os centriolos divididos, ao se afastarem já se acham envolvidos pelos cromosomios do cariosoma. Pensamos deste modo porque, não raro, se notam aspetos semelhantes ao da fig. 10, onde se vê um estrangulamento muito acentuado na zona mediana do cariosoma, o que dá a impressão de ele se dividir apenas por estiramento.

Em alguns esquizontes encontramos granações de cromatina, cromídios, que lembram ser os derradeiros vestígios de nucleos destruídos no plasma (figs. 7, 8, 9, Est. 1).

Quando vai adiantada a divisão nuclear, inicia-se a segmentação do plasma (figs. 22 a 24, Est. 2), adquirindo os esquizontes, a principio, aspetos lobulados. Depois cada nucleo é envolvido por certa porção de plasma condensado, formando-se desta sorte pequenas células arredondadas, que são os esquizozoitos; estes se acham colocados, em numero variavel, na periferia da massa do plasma residual e imediatamente abaixo do revestimento periplástico da primitiva célula (fig. 25, 26, Est. 2).

Pelo que podemos observar, notamos que a evolução esquizogonica, nesta gregarina, é muito menos frequente que a sexuada.

III — Gametogonia.

Como acima referimos, os organismos que evoluem para gamontes oferecem o periplasto constituído por fibrilas longitudinais muito desenvolvidas (figs. 1 a 3, 11 a 15, etc., Est. 1).

Nos poucos preparados que possuímos são estas as formas que predominam. Pelo exame a fresco vimos que são dotados de certa mobilidade, deslocando-se no campo do microscopio, na direção de seu eixo longitudinal á custa de amplos e lentos movimentos de lateridade da extremidade anterior do corpo, que é a porção mais afilada.

Os preparados corados mostram o endoplasma constituído de finos alveolos, existindo ás vezes, zonas de rarefação do plasma, outras vezes grandes vacuolos. Ha grande diferenciação no plasma periferico determinada pela formação fibrilar, já referida; devemos notar a

Promitose, ähnlich der von JOLLOS (1908) bei *Adelea ovata* beschriebenen, wo die neugebildeten Zentriolen schon beim Auseinanderweichen von den Chromosomen des Karyosoms umgeben sind. Wir neigen zu dieser Auffassung, weil man gar nicht selten Bilder, wie auf Fig. 10, beobachtet, welche eine starke Einkerbung des Karyosoms zeigen, die ganz den Eindruck einer Teilung durch Ausziehen macht.

Bei einigen Schizonten beobachteten wir Chromatingranula, Chromidien, welche die letzten Ueberbleibsel im Plasma zerstörter Kerne zu sein scheinen (s. Taf. 1, 7, 8 u. 9).

Wenn die Kernteilung schon vorgeschritten ist, beginnt die Segmentierung des Plasmas (Taf. 2, Fig. 22 bis 24), indem die Schizonten zunächst ein gelapptes Aussehen annehmen. Alsdann umgibt sich jeder Kern mit einer gewissen Menge kondensierten Plasmas, wodurch kleine rundliche Zellen entstehen; es sind dies die Schizozoiten, welche in wechselnder Zahl an der Peripherie des Plasmarestkörpers und unmittelbar unter der Periplasthülle der ursprünglichen Zelle liegen. (Fig. 25 und 26).

Soweit ich beobachten konnte, ist bei dieser Gregarina die schizogonische Entwicklung weit seltener, als die sexuelle.

III. Gametogonie.

Wie bereits erwähnt, zeigen die in Entwicklung begriffenen Gamonten ein aus gut entwickelten Längsfasern gebildetes Periplast. (Taf. 1, Fig. 1—3, 11—15 etc.).

In den wenigen Präparaten, die wir besitzen, sind dieselben am zahlreichsten. Frisch untersucht zeigten uns dieselben eine gewisse Beweglichkeit; sie verschieben sich im Gesichtsfelde in der Richtung der Längsachse durch langsame aber ausgiebige seitliche Bewegungen des stärker zugespitzten Vorderendes.

Gefärbte Präparate zeigen das Endoplasma von feinwabiger Struktur; manchmal erscheint das Plasma stellenweise reduziert oder es zeigt grosse Vakuolen. An der Peripherie zeigt es sich durch die bereits erwähnte Färbung stark differenziert; das anscheinende Feh-

ausência aparente de fibrilas transversais nestas células.

Os gamontes são sempre organismos muito alongados e alguns estiram-se a tal ponto que o núcleo fica ocupando aproximadamente dois terços do diâmetro transversal da célula (fig. 15; a fig. 15 a é continuação da precedente).

Depois de certo desenvolvimento os gamontes passam por modificações morfológicas interessantes que vamos referir. Seu endoplasma, ao condensar-se aos poucos em torno do núcleo, forma volumosa esfera que, às vezes fica situada na extremidade posterior da célula (fig. 18, Est. 1); é, porém, mais comum, achar-se localizada na zona mediana (figs. 19, 20, 21, 27, Est. 2), recoberta parcial ou totalmente pelo periplasto. Às vezes este se rompe e ela faz hernia, em determinado ponto como se observa na fig. 16; outras vezes, ainda, o periplasto correspondente à porção que envolvia a extremidade posterior do gamonte, semelhante agora a um tubo, vazio de plasma, dobra-se, contornando a região mais dilatada (fig. 20, Est. 2).

O núcleo dos gamontes muito jovens, é pobre em substância cromática e apresenta tenue membrana, que limita a zona clara de suco nuclear, em cujo centro se acha o cariosoma, ou melhor, o nucleolo. Próximo deste se nota um ou dois grânulos cromáticos que muitas vezes se acham a ele ligados por tenue filamento (figs. 2, 3, Est. 1).

Com o crescimento dos gamontes, o núcleo adquire certo acúmulo de substância acromática, como nos mostram as figs. 12 a 21. Notam-se trabéculas de linina que, partindo do centro terminam na face interna da membrana, em cuja inserção se notam, às vezes, grânulações cromáticas. Outras vezes a linina se dispõe nitidamente sob aspecto reticulado, havendo nos pontos de cruzamento os mesmos grânulos de cromatina (fig. 19a, Est. 2). Frequentemente ela também se acumula em um dos polos do núcleo, simulando um crescente que abraça, pela parte côncava, a zona de suco nuclear para onde envia alguns septos (figs. 12, 13, 15 a 17, 22, Est. 1 e 2).

O ou os grânulos cromáticos existentes próximo ao nucleolo, acreditamos represen-

ten transversal de fibrilas verdient hervorgehoben zu werden.

Die Gamonten haben stets eine längliche Form und einige erscheinen derart gestreckt, dass der Kern etwa zwei Drittel des Querdurchmessers der Zelle einnimmt (Fig. 15 und deren Fortsetzung 15 a).

Auf einer gewissen Entwicklungsstufe zeigen die Gamonten interessante morphologische Veränderungen: ihr Endoplasma verdichtet sich allmählich um den Kern und bildet eine voluminöse Kugel, welche manchmal am Hinterende der Zelle liegt (Taf. 1, Fig. 18), häufiger aber ganz oder teilweise vom Periplast bedeckt, im mittleren Teile getroffen wird. (Fig. 19, 20, 21, 27 auf Taf. 2). Manchmal reißt das Periplast an einer bestimmten Stelle ein, wobei das Plasma vorfällt, wie man auf Fig. 16 sieht; in andern Fällen biegt sich der Teil, welcher das Hinterende des Gamonten umhüllte, in Form eines Schlauches um und legt sich um die erweiterte Portion (Taf. 2, Fig. 20).

Der Kern der ganz jungen Gamonten enthält wenig achromatische Substanz und zeigt eine zarte Membran, welche die klare Kernsaftzone umschreibt; diese enthält im Zentrum das Karyosom oder richtiger den Nukleolus. In seiner Nähe trifft man ein oder zwei Chromatinkörnchen, welche gar nicht selten durch einen dünnen Faden mit demselben in Verbindung stehen (Fig. 2 und 3, Taf. 1).

Bei der Weiterentwicklung der Gamonten häuft sich im Kern achromatische Substanz an, wie es Fig. 12—21 zeigen. Man sieht Lininfäden vom Zentrum nach der Innenseite der Membran verlaufen und an der Anheftungsstelle manchmal Chromatinkörnchen. Andere Male erscheint das Linin deutlich retikulär und an den Kreuzungsstellen finden sich dieselben Körnchen chromatischer Substanz. (Taf. 2, Fig. 19a). Manchmal häuft sie sich auch an einem der Kernpole an, in Form eines Halbmondes, der die Kernsaftzone umfasst und einige Septa in dieselbe hineinsendet (Taf. 1 und 2, Fig. 12, 13, 15—17 und 22).

Das oder die nahe am Nukleolus gelegenen Chromatinkörnchen spielen nach un-

tarem o mesmo papel que aquele descrito nos esquizontes, isto é, consideramol-os como centriolos extra cariosomicos. Eles têm a mesma predominância na divisão nuclear, orientando pelo seu desdobraimento a cínese, como se vê em um dos núcleos da fig. 11, em início de mitose.

É comum encontrarmos gamontes isolados providos de dois ou mais núcleos (figs. 11, 13, 15, 27, Est. 1 e 2), sendo alguns destes de idêntica estrutura no mesmo indivíduo (fig. 15). Há destes núcleos que degeneram no plasma, como se vê claramente pela observação das figuras 3, 16, 17 que mostram grânulos volumosos de cromatina, os quais não passam de cariosomas de núcleos degenerados, envolvidos ainda pela orla clara que correspondia à zona de suco nuclear. Igual destino terá sem dúvida, o núcleo mais anterior representado na fig. 13. Acontece, porém, às vezes, que esses núcleos secundários se dividem dando outros filhos (fig. 11, Est. 1).

Pesquisas de BERNDT (1902) sobre as *Eugregarinas* vieram mostrar que os *cistos solitários* não conseguem realizar sua completa evolução, entrando logo em degeneração.

Interpretamos a existência dos gamontes multinucleados no *Schizocystis spinigeri* como tendo idêntica significação dos encistamentos solitários não alcançando, como estes, o termo de sua evolução. É por isto que encontramos às vezes, gamontes, cujo plasma está semeado de grânulos cromáticos, sem nenhuma estrutura (fig. 34, Est. 3) e outros que só se podem reconhecer pela persistência do periplasto fibrilar.

A união dos gamontes realiza-se entre indivíduos de idêntica morfologia. As células juntam-se pelas extremidades mais rombas (fig. 28, Est. 2). Nesta ocasião não sabemos se os gamontes perdem sempre o apêndice periplástico observado nas figs. 19, 20 e 21, ou se eles persistem algumas vezes.

Depois de unidos, os gamontes arredondam-se (fig. 29, Est. 2) e aparece a membrana cística comum que os envolve. Não podemos decidir se há formação de septo mediano separando as duas células, ou se as

serer Auffassung, dieselbe Rolle, wie die bei den Schizonten angegebene; es sind ausserhalb des Karyosoms gelegene Zentriolen. Für die Kernteilung sind sie eben so bedeutungsvoll, indem sie durch ihre Teilung die Richtung der Kinese bestimmen, wie es auf Fig. 11 bei einem im Anfangsstadium der Mitose befindlichen Kerne zu sehen ist.

Ein häufiger Befund sind isolierte Gamonten mit zwei oder mehr Kernen (Fig. 11, 13, 15 und 27), deren einige bei demselben Individuum gleiche Struktur zeigen. (Fig. 15). Es gibt auch Kerne, welche im Plasma degenerieren, wie auf Fig. 3, 16 und 17 deutlich zu sehen; hier sieht man grosse Chromatinkörner, welche nichts anderes als entartete Kerne sind, noch deutlich von einem hellen Saume, der früheren Kernsaftzone, umgeben. Auch den auf Taf. 1 Fig. 13 nach dem Vorderende zu gelegenen Kern erwartet zweifellos dasselbe Geschick; es kommt aber auch vor, dass solche sekundären Kerne sich weiter teilen und Tochterkerne produzieren (Fig. 11).

Die Untersuchungen von BERNDT (1902) über die Eugregarinen haben gezeigt, dass solitäre Zysten ihre Entwicklung nicht vollenden können, sondern bald der Degeneration verfallen.

Wir betrachten das Vorkommen der multinucleären Gamonten bei *Schizocystis spinigeri* als gleichbedeutend mit den solitären Inzystierungen, indem sie ebensowenig ihre Entwicklung vollenden. Dies ist auch der Grund, weshalb wir bisweilen Gamonten zu sehen bekommen, deren Plasma von strukturlosen Chromatinkörnern durchsetzt ist (Taf. 3, Fig. 34) und andere die nur noch an dem persistierenden fibrillären Periplast erkennbar sind.

Die Vereinigung der Gamonten vollzieht sich zwischen morphologisch identischen Individuen. Die Zellen verschmelzen mit dem stumpferen Ende (Fig. 28), worauf die gemeinsame Hüllmembran erscheint. Es bleibt dabei unentschieden, ob die Gamonten immer den Periplastanhang, der in Fig. 19—21 sichtbar ist, verlieren oder ob er manchmal bestehen bleibt.

Nach ihrer Vereinigung runden sich die Gameten ab (Taf. 2, Fig. 29); wir können nicht

paredes internas mais condensadas, vistas nas figs. 29 a 31, significam apenas condensação do periplasto que reveste cada uma das faces em contato.

Em seguida os nucleos sofrem repetidas divisões para a formação dos gametos. Não pudemos verificar os processos iniciais que neles se passam; só conseguimos observar nucleos em reconstituição, como os das figuras 30 e 31.

Não vimos também os gametos formados, pelo que não sabemos si nesta gregarina ha iso — ou anisogamia.

Observamos na fig. 32 um cisto onde se notam ainda algumas *copulas*, que são reconhecíveis, além da forma oval, pela existência de nucleos em polos opostos, dos quais um é provavelmente o do microgameto ainda não fundido ao outro. No mesmo cisto encontram-se individuos em inicio de divisões nucleares, chamando-nos a atenção aquella forma cujos centriolos já se acham divididos.

O esporocistos tem forma oval, com as extremidades mais ou menos afiladas. O numero deles é variavel e pudemos observar até 24 em cada cisto (fig. 33, Est. 3).

Seu nucleo é fortemente cromatico; uns são constituídos por bloco compacto de cromatina, outros por granulações dispostas irregularmente.

O plasma é alveolar, isento de quaisquer especies de inclusões e muito siderofilo, permanecendo ainda bem azulado depois de prolongada diferenciação pelo alume ferrico.

Na zona central dos cistos encontra-se a massa de plasma residual que muitas vezes apresenta granulações com pouca afinidade para a materia corante.

Apesar do grande numero de esporocistos livres no intestino, nunca conseguimos verificar a formação de seus esporozoitos.

IV — Considerações gerais.

Pelo que fica exposto, verificámos certas particularidades na evolução desta gregarina: ausencia de aparelho de fixação ás celulas do intestino; fenomenos curiosos na evolução dos gamontes; e, sobretudo, processos de

entscheiden, ob ein medianes Septum gebildet wird oder ob die dichteren Innenwände nur eine Verdickung des Periplastes darstellt, welcher jede der Kontaktflächen überzieht.

In der Folge vollziehen sich bei der Gametenbildung wiederholte Kernteilungen. Die ersten Vorgänge, die sich dabei abspielen, haben wir nicht verfolgen können; wir beobachteten nur eine Rekonstitution von Kernen (Fig. 30 und 31).

Auch die fertigen Gameten trafen wir nicht an, so dass wir im Zweifel blieben, ob bei unserer Gregarine Iso-oder Anisogamie stattfindet.

Fig. 32 zeigt uns eine Zyste, welche einige *Copulae* aufweist, welche durch die ovale Form und das Vorkommen von Kernen an entgegengesetzten Polen kenntlich sind. Wahrscheinlich gehört der eine Kern dem Mikrogameten an. In derselben Zyste findet man auch Individuen im Anfangsstadium der Kernteilung, wobei die Form mit bereits getheilten Zentriolen beachtungswert erscheint.

Die Form der Sporozysten ist ein Oval mit mehr weniger zugespitzten Enden. Ihre Zahl wechselt; wir haben bis 24 in einer Zyste beobachten können (Taf. 3, Fig. 33). Der Kern ist stark chromatinhaltig, manchmal aus einem kompakten Chromatinblocke, andere Male aus unregelmässig angeordneten Körnchen gebildet.

Das Plasma ist alveolär und frei von Einschlüssen, dabei stark siderophil, da es auch nach langer Differenzierung mit Eisenalaun deutlich blau bleibt. Im Zentrum der Zysten findet sich eine Masse von Residualplasma, welche häufig schwer färbbare Granulationen enthält.

Trotzdem freie Sporozysten im Darne sehr zahlreich waren, haben wir die Bildung von Sporozoiten nie beobachten können.

VI. Allgemeine Betrachtungen.

Wie unsere Darstellung zeigt, haben wir bei der Entwicklung dieser Gregarine manche Besonderheiten beobachtet, wie Fehlen eines Apparates zur Fixation an den Darmzellen, merkwürdige Erscheinungen bei der Gamontenentwicklung und besonders primitivere

divisão nuclear muito mais simplificados que em outros protozoários do mesmo grupo.

Colocámos esta esquizogregarina no género *Schizocystis* apenas provisoriamente, e á espera de que estudos posteriores, realizáveis logo que dispuzermos de material, fornecendo-nos outras minúcias necessarias, venham decidir definitivamente sobre sua colocação nesse ou em outro género.

Bem sabemos que, atualmente, não se pode colocar a gregarina de *Spiniger* no género *Schizocystis*, cuja diagnose foi assim estabelecida por LÉGER: «*Schizogregarina* de esquizontes extracelulares vermiformes e móveis, ou massivos (arredondados), com numerosos nucleos, cuja multiplicação se realiza no decorrer do crescimento da celula. Gamontes ovoides terminados em ponta, posteriormente. Cistos ovoides ou sub-esfericos. Gametos anisogamicos do tipo atinocefalidio. Esporocistos pouco numerosos, octozoicos, de forma biconica do tipo atinocefalidio. Uma unica especie conhecida atualmente: *Schizocystis gregarinoides*.»

Tivemos occasião de notar, como já foi referido, a rara frequencia da evolução esquizogonica desta gregarina; pensamos que este fenomeno seja determinado pelas condições de vida extra-celular constante, que facilitam extremamente o contato reciproco dos gametócitos. Este fato vem confirmar as opiniões de LÉGER que, opondo-se ás de FATHAM 1908 sobre ser a esquizogonia um fenomeno posteriormente adquirido, acredita serem as *Eugregarinas derivadas das esquizogregarinas pela perda do ciclo esquizogonico*.

Acreditamos que o estudo desta gregarina veio mostrar, com a evolução abortiva de alguns gamontes, o vestigio remoto, o esboço ancestral do encistamento solitario das *Eugregarinas*, fenomeno este que, na *Porospora gigantea*, atinjiu a tal aperfeiçoamento, expresso na formação completa de novos individuos, que LÉGER foi levado a considerar como um estágio esquizogonico na evolução dessa *eugregarina*.

Zellteilungsvorgänge, als sie bei andern Vertretern derselben Gruppe bekannt geworden sind.

Wir stellen diese Schizogregarine nur provisorisch zum Genus *Schizocystis*, bis weitere Studien, deren Ausführung von neuem Material abhängt, uns andere notwendige Einzelheiten erkennen lassen, welche über die Klassifikation der Art endgültig zu entscheiden gestatten. Wir wissen auch, dass zur Zeit unsere Gregarine nicht in das Genus *Schizocystis* gestellt werden kann, für welches LÉGER folgende Diagnose gab: «Schizogregarine mit extrazellulären, beweglichen, wurmförmigen oder massiven, abgerundeten Schizonten, mit zahlreichen Kernen, deren Vermehrung während des Wachstums der Zelle erfolgt. Ovoide oder subsphärische, hinten zugespitzte Gamonten. Ovoide oder subsphärische Zysten. Anisogame Gameten von actinocephaloidem Typus. Spärliche, octozoische Sporoziten von biconischer actinocephaloider Form. Zur Zeit nur eine Spezies bekannt, nämlich *Schizocystis gregarinoides*.

Wie erwähnt, fiel uns bei dieser Gregarine die Seltenheit der schizogonischen Entwicklung auf; wir glauben, dass diese Erscheinung durch die Bedingungen des stets extrazellulären Lebens verursacht wird, welche den gegenseitigen Kontakt der Gametozysten begünstigen. Diese Tatsache bestätigt die Auffassung von LÉGER, der, im Gegensatz zu den Ideen von FATHAM (1908), welcher die Schizogonie für eine spätere Acquisition hielt, der Ansicht ist, dass die *Eugregarinen* durch Verlust des Schizogoniezyklus aus den *Schizogregarinen* hervorgingen.

Wir glauben, dass das Studium dieser Gregarine durch die abortive Entwicklung einiger Gamonten, das letzte Ueberbleibsel und die Andeutung der ursprünglichen solitären Inzystierung der *Eugregarinen* zeigt, ein Phänomen, welches bei *Porospora gigantea* eine solche Vollendung erfuhr (wie die Erzeugung neuer Individuen beweist), dass LÉGER veranlasst wurde, sie als schizogonisches Stadium in der Entwicklung dieser *Eugregarine* anzusehen.

Ao terminar cumprimos o dever de apresentar os mais sinceros agradecimentos aos nossos mestres Drs. CARLOS CHAGAS e A. LUTZ pelos inestimáveis auxílios que nos dispensaram para a realização deste trabalho.

Manguinhos, 4—11—1912.

Zum Schlusse erfüllen wir die Pflicht, unseren Lehrern Drs. CARLOS CHAGAS und A. LUTZ für die unschätzbare Hilfe, welche sie uns bei der Ausführung obiger kurzer Arbeit leisteten, unseren aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Manguinhos, 4—11—1912.



Explicação das figuras das Estampas 1-2 e 3

Estes desenhos foram obtidos com Oc. comp. 4 e Obj. apocr., 2 mm. de ZEISS, exceção para a fig. 19^a obtida com Oc. comp. 8 e mesma objetiva.

- Fig. 1 a 3—Formas jovens, evoluindo para gamontes.
- Fig. 4 a 6—Formas jovens, evoluindo para esquizontes.
- Fig. 7 —Joven esquizonte com nucleo em divisão.
- Fig. 8 a 10—Esquizontes mono—e binucleados. Notar os centriolos divididos na fig. 9.
- Fig. 11 a 18—Gamontes em diversas fases de evolução.
- Fig. 11, 13 e 15—Gamontes, bi— e multinucleados que entrarão em dejeneração.
- Fig. 15 a —Porção anterior da figura precedente.
- Fig. 16, 18 a 21 e 27—Gamontes, cujo endoplasma se condensou em torno do nucleo.
- Fig. 19 a —Nucleo da figura precedente, obtido com maior aumento para mostrar a rede de linina com granulações cromaticas.
- Fig. 22 e 24—Diversos periodos da esquizogonia. Notar as mitoses dos nucleos da fig. 22.
- Fig. 25 e 26—Estádio final da esquizogonia, vendo-se os esquizozoitos ainda reunidos.
- Fig. 28 —União dos gamontes.
- Fig. 29 a 31—Cistos em formação de gametos.
- Fig. 32 —Cisto onde se vêem algumas copulæ.
- Fig. 33 —Cisto com numerosos esporocistos.
- Fig. 34 —Gamonte dejenerado.

Erklärung der Figuren auf den Tafeln 1, 2, u. 3.

Diese Zeichnungen wurden mit Comp. oc. 4 und Apochr. obj. 2 mm. von Zeiss entworfen; nur bei Fig. 19 a kam Comp. oc. 8 zur Anwendung.

- Fig. 1-3 Junge, zu Gamonten anwachsende Formen.
- Fig. 4-6 Junge zu Schizonten anwachsende Formen.
- Fig. 7 Junger Schizont mit Kernteilung.
- Fig. 8-10 Mono- und binucleäre Schizonten. Man beachte die geteilten Centriolen in der Figur 9.
- Fig. 11-18 Gamonten in verschiedenen Entwicklungsphasen.
- Fig. 11-13 u. 15. Mono- und binucleäre Gamonten, die der Degeneration anheimfallen.
- Fig. 15 a Vorderpartie der vorigen Figur.
- Fig. 16-18-21. Gamonten, deren Endoplasma sich um den Kern herum kondensiert hat.
- Fig. 19 a Der Kern der vorigen Figur, mit grosser Vergrösserung gesehen, um das Lininnetz mit den Chromatinkörnern zu zeigen.
- Fig. 22-23 Verschiedene Perioden der Schizogonie. Man beachte die Mitosen des Kernes auf Figur 22.
- Fig. 25-26 Schlussphase der Schizogonie, die Schizoiten sind noch beisammen.
- Fig. 28 Vereinigung der Gamonten.
- Fig. 29-31 Zysten mit Bildung von Gameten.
- Fig. 32 Zysten mit einigen sichtbaren Copulæ.
- Fig. 33 Zyste mit zahlreichen Sporozysten.
- Fig. 34 Degenerierter Gamont.

